

EVALUAREA INDICILOR STRESULUI OXIDATIV ȘI PROTECȚIEI ANTIOXIDANTE ÎN MĂDUVA OSOASĂ ÎN HEPATITA TOXICĂ ȘI LA ADMINISTRAREA POLIZAHARIDELOR SULFATATE DIN SPIRULINĂ

Olga Mihalciuc¹ – cercet. șt.,
Veronica Sardari^{1,2} – cercet. șt., superior, dr. șt. med.,
Valeriana Pantea¹ – cercet. șt.,
Lilia Andronache¹ – cercet. șt., dr. șt. med.,
Larisa Procopișin³ – conf. cercet., dr. șt. med.,
Olga Tagadiuc¹ – conf. univ., dr. hab. șt. med.

¹Laboratorul de biochimie,

²Catedra de biochimie și biochimie clinică,

IP USMF “Nicolae Testemițanu”,

³Laboratorul de imunologie,

Institutul de Ftiziopulmonologie „Chiril Draganiuc”

tel.: +373 22 205136, olga.mihalciuc@usmf.md

Rezumat

În lucrare sunt prezentate rezultatele cercetării influenței polizaharidelor sulfatate extrase din biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis* (PSS) asupra indicilor stresului oxidativ și activității unor enzime antioxidante în măduva osoasă în condiții fiziologice și la modelarea hepatitei toxice. *Material și metode.* Cercetările au fost efectuate *in vivo* pe 32 șobolani adulți. Hepatopatia experimentală a fost indusă cu tetraclorură de carbon (CCl₄). *Rezultate.* S-a constatat că la animalele intacte PSS reduce intensitatea proceselor de oxidare cu radicali liberi – scade nivelul DAM, AOPP, S-nitrozotioili și AGEs în măduva osoasă, fapt ce denotă efectul antioxidant al acestui preparat. PSS, deasemenea, reușește să reducă intensitatea efectelor toxice ale CCl₄ asupra celulelor măduvei osoase prin tendința de normalizare și chiar readucerea la valori normale a nivelului DAM și AGEs, precum și a funcționalității NADH-oxidazei, NADPH-oxidazei, mieloperoxidazei, SOD și catalazei. *Concluzii.* Rezultatele obținute confirmă oportunitatea utilizării PSS în calitate de remediu patogenic de corecție a dereglărilor cauzate de exacerbaria proceselor de oxidare cu radicali liberi în măduva osoasă în condițiile hepatitei toxice.

Cuvinte-cheie: polizaharide sulfatate din spirulină, stres oxidativ, protecție antioxidantă, măduva osoasă, hepatită toxică, tetraclorura de carbon

Summary. Bone marrow evaluation of oxidative stress and antioxidant protection indices in toxic hepatitis and at the administration of sulphated polysaccharides from spirulina

This study presents the results of the influence of sulphated polysaccharides from the cyanobacteria *Spirulina platensis* (SPS) on the oxidative stress indices and the activity of some antioxidant enzymes in the bone marrow under physiological conditions and on the toxic hepatitis modeling. *Material and methods:* the researches were carried on 32 adult rats *in vivo*. The experimental hepatopathy was induced by carbon tetrachloride (CCl₄). *Results:* there has been found that in intact animals, PSS reduces the intensity of free radical oxidation processes and decreases the level of MDA, AOPP, S-nitrosothiols and AGEs in the bone marrow, which denotes the antioxidant effect of this preparation. The PSS also reduces the intensity of CCl₄ toxic effects on bone marrow cells by means of a normalization tendency and even returning to normal levels of MDA and AGEs values, as well as the functionality of the NADH oxidase, NADPH oxidase, MPO, SOD and catalase. *Conclusions:* The results confirm the utility of SPS as a remedy for pathogenic correction of disturbances caused by exacerbation of free radical oxidation processes in the bone marrow in toxic hepatitis.

Key words: sulfated polysaccharides from Spirulina, oxidative stress, antioxidant protection, bone marrow, toxic hepatitis, carbon tetrachloride

Резюме. Изменения показателей окислительного стресса и антиоксидантной защиты в костном мозге при токсическом гепатите и при введении сульфатированных полисахаридов из спироулины

В работе представлены результаты исследования влияния сульфатированных полисахаридов из цианобактерии *Spirulina platensis* (СПС) на показатели окислительного стресса и активности некоторых антиоксидантных ферментов в костном мозге в физиологических условиях и при моделировании токсического гепатита. *Материалы и методы:* исследование проводилось на 32 взрослых крысах *in vivo*. Экспериментальную гепатопатию индуцировали интоксикацией четыреххлористым углеродом (CCl₄). *Результаты:* установлено, что у intactных животных СПС уменьшает интенсивность окисления свободными радикалами, о чем можно судить по сниже-

нию уровня MDA, AOPP, S-нитрозотиолов и AGEs в костном мозге. Эти данные указывает на антиоксидантный эффект препарата. СПС, также, снижают интенсивность токсического воздействия CCl_4 на клетки костного мозга, что проявляется тенденцией или даже нормализацией уровней MDA и AGEs, а также нормализацией активности NADH-оксидазы, NADPH-оксидазы, миелопероксидазы, СОД и каталазы. Выводы: Полученные результаты подтверждают целесообразность использования СПС в качестве средства для патогенетической коррекции нарушений, вызванных усугублением процессов свободнорадикального окисления в костном мозге при моделировании токсического гепатита.

Ключевые слова: сульфатированные полисахариды из спиролины, окислительный стресс, антиоксидантная защита, костный мозг, токсический гепатит, четыреххлористый углерод

Introducere. Stresul oxidativ (SO) reprezintă dezechilibrul între producția de RL și a metaboliților reactivi, așa numiții oxidanți sau specii reactive de oxigen (SRO) și eliminarea lor prin mecanisme de protecție, denumite substanțe antioxidante. Acest dezechilibru duce la deteriorarea biomoleculelor și a celulelor, cu un impact important asupra întregului organism. Astfel, se creează condițiile apariției așa numitelor boli prin radicali liberi (RL), în care manifestarea finală este leziunea sau moartea celulară, produsă prin alterarea structurală și funcțională a elementelor constitutive: ADN, proteinele, lipidele și glucidele [1].

SO își cumulează efectele cu stresul nitroactiv, ce apare în urma formării speciilor reactive de azot (SRN), care reprezintă o familie de molecule antimicrobiene derivate din oxid nitric (NO) și superoxid, produse prin activitatea enzimelor NOS2 și NADPH-oxidaza, rezultând peroxinitritul. NOS2 se exprimă îndeosebi în macrofage, după inducerea acestora de către citochine și produși microbieni, îndeosebi a lipopolizaharidelor și a interferonului gama. Peroxinitritul este foarte reactiv și poate determina fragmentarea ADN și oxidarea lipidelor. SRN sunt considerate adesea drept o subclasă a SRO și includ: oxidul nitric, oxidul nitros, peroxinitritul, anionul nitroxil și acidul peroxinitros [2].

Se cunosc astăzi aproximativ nouăzeci de maladii degenerative cronice cauzate de acțiunea RL, printre care cele mai frecvente sunt: sindromul de detresă respiratorie acută, boala Alzheimer, ateroscleroza, îmbătrânirea, cancerul, boala cardiovasculară, diabetul, inflamația, boala inflamatorie mixtă, boli neurologice, obezitatea, boala Parkinson, fibroza pulmonară, artrita reumatoidă, boala vasculară [1,3,4].

Bolile inflamatorii sunt printre cele mai frecvente patologii din întreaga lume. Prevalența, severitatea și complexitatea lor sunt în ascensiune permanentă, ele majorând considerabil povara costurilor de asistență medicală. Peroxidarea lipidelor (POL) este considerată un mecanism universal al leziunilor celulare la nivel membranar în condițiile diverselor patologii, inclusiv și ale celor hepatice. Se consideră, că intensificarea proceselor de peroxidare a lipidelor membranare constituie etapa inițială și condiția de bază pen-

tru declanșarea citolizei hepatocitelor [5]. Un șir de studii *in vitro* și *in vivo* sugerează că stresul oxidativ și sindromul de peroxidare asociat lui provoacă dereglări care determină evoluția nefavorabilă a afecțiunilor hepatice cronice spre fibroză. A fost estimat, că afecțiunile hepatice de diferită genăză (inclusiv cele induse de tetraclorura de carbon - CCl_4) sunt însoțite de o sporire a proceselor POL [6].

Producerea radicalilor liberi și intensitatea POL sunt menținute în limitele fiziologice de către sistemul antioxidant (SAO) format din compuși antioxidanți hidrofilii, care activează în citoplasmă și în plasma sanguină și hidrofobi, care acționează în membranele biologice [7, 8]. Antioxidanții sunt donatori de electroni și pot rupe reacția în lanț a RL sacrificând proprii electroni pentru hrănirea RL, însă, fără să devină ei însăși RL [9]. Antioxidanții exercită efectele lor prin captarea sau prevenind generarea de SRO, care pot proteja formarea de RL și împiedică progresarea multor boli cronice, inclusiv cancerul, inflamația și maladiile cardiovasculare. Luând în considerare cele expuse mai sus, elaborarea și dezvoltarea de noi preparate antioxidante este de mare importanță teoretică și practică în vederea elaborării și producerii medicamentelor în baza lor.

Deosebit de valoroase în acest sens sunt medicamentele de origine vegetală, care au avantaje față de cele sintetice: acestea sunt lipsite de efecte secundare, rar prezintă toxicitate.

Un rol important ca sursă pentru obținerea compușilor biologic activi le revine cianobacteriilor, produsele obținute din ele fiind aplicate în fitotehnie, zootehnie și medicină [10]. Cercetarea efectelor curative ale biopreparatelor de origine ciano-bacteriană, elucidarea posibilităților utilizării lor specifice în diverse patologii, stabilirea mecanismelor acțiunii lor terapeutice și reparative în anumite maladii, a constituit obiectivul mai multor studii de ultimă oră [11,12,13].

Un interes aparte reprezintă polizaharidele cianobacteriene, substanțe organice caracterizate printr-o diversitate structurală mare și care posedă multiple acțiuni sanogene asupra organismelor vii [10,14]. Însă, până în prezent în literatura accesibilă nu am

întâlnit studii detaliate privind mecanismele biochimice ale acțiunii lor asupra dereglărilor metabolice în măduva osoasă în cazul patologiei hepatice de origine toxică.

Scopul studiului constă în elucidarea mecanismelor de acțiune a polizaharidelor sulfatate din spirulina asupra indicilor stresului oxidativ și activității unor enzime antioxidante în măduva osoasă în condiții fiziologice și la modelarea hepatitei toxice (HT) experimentale.

Material și metode. Polizaharidele sulfatate din spirulină (PSS) au fost obținute la Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM sub conducerea dlui Valeriu Rudic, dr. hab. șt. biol., profesor universitar, academician. Polizaharidele sulfatate extrase din cianobacteria *Spirulina platensis* reprezintă un compus organic macromolecular cu proprietăți acide ce conține fucoză, ramnoză, xiloză, manoză, glucoză și galactoză [10].

Cercetările au fost efectuate *in vivo* pe animale de laborator pe baza probelor biologice colectate conform principiilor contemporane în standardizarea biologică a experiențelor, aprobate de Comitetul de Etică a Cercetării al USMF „Nicolae Testemițanu” și s-a derulat conform declarației de la Helsinki cu modificările ulterioare (Somerset West Amendament, 1996).

Experiențele au fost efectuate pe 32 șobolani adulți, fără pedigiu, cu masa corporală cuprinsă între 110 și 230 g, care au fost divizați egal în următoarele loturi: 1) lotul-martor; 2) șobolani intacti, cărora li s-a administrat PSS; 3) șobolani cu HT; 4) șobolani cu HT, cărora li s-a administrat PSS.

Lotul-martor a fost întreținut la un regim obișnuit alimentar de vivariu cu administrarea zilnică per os a 2,0 ml bulion de vită în decursul a 30 zile. Hepatopatia (HP) experimentală a fost indusă la animalele de laborator (șobolani) prin metoda clasică de injectări subcutanate bisăptămânale a soluției de 50% de tetraclorură de carbon (CCl_4) în ulei de măsline în doză de 3 ml/kg masă corporală în decurs de 60 zile. PSS a fost diluat în 2,0 ml bulion de vită și administrat per os în doză de 50 mg/kg timp de 30 zile. După 24 de ore de la ultima administrare a PSS, animalele au fost sacrificate sub narcroză ușoară cu eter sulfuric și extrasă măduva osoasă, iar în calitate de mediu de suspensie a fost utilizată soluția tampon fosfat 0,1 M (pH 7,4), ce conținea 1 mM EDTA, astfel ca diluția finală a suspensiei să constituie 1:10. Toate operațiile s-au executat în mediu glacial.

Pentru distrugerea completă a membranelor celulare suspensia a fost prelucrată cu triton X-100 în concentrația finală 0,1% și supuse procedurii repetate de înghețare-dezghețare. Ulterior, suspensia de celule

a fost supusă centrifugării timp de 15 min la 3000 tur/min, iar supernatantul a fost transferat în eprubete curate și până la examinare păstrat în congelator la minus 40°C. Întreg procesul de preparare a omogenatelor tisulare s-a executat în condiții regulamentare pentru aprecierea activității enzimatică.

Aprecierea intensității reacțiilor de oxidare cu radicali liberi în materialul biologic s-a efectuat prin dozarea principalilor indici ai proceselor de peroxidare: nivelul dialdehidei malonice (DAM), produșilor proteici de oxidare avansată (advanced oxidation protein products – AOPP), produșilor finali de glicare avansată (advanced glycated end products - AGEs), metaboliților oxidului nitric (NO) și S-nitrozotiolilor, activității enzimelor prooxidante – NADH-oxidazei, NADPH-oxidazei, MPO și celor antioxidante – SOD și catalazei conform procedeele descrise [15,16].

Toate procedeele de determinare a activității enzimelor și a conținutului de substanțe au fost executate după tehnici, adaptate pentru aplicarea la spectrofluorimetrul cu microplăci Synergy H1 (Hydrid Reader) (BioTek Instruments, SUA).

Evaluarea statistică a datelor obținute a fost efectuată în programul computerizat „StatsDirect statistical software” (2001). Pentru testarea diferenței semnificative dintre indicii studiați ai loturilor comparate a fost aplicat testul statistic nonparametric „U Mann-Whitney” și pragul de semnificație „p”.

Rezultate. Rezultatele evaluării unor indici ai stresului oxidativ în măduva osoasă la modelarea hepatitei toxice experimentale sunt expuse în datele statistice din tabelul 1.

Datele obținute denotă că în lotul cu animale intacte sub influența remediei cianobacterian PSS are loc scăderea concludentă a nivelului indicilor DAM cu 35%, AOPP și S-Nitrozotiolilor – cu 22%, cu excepția AGEs și NO, valorile cărora practic nu se deosebeau de indicii lotului martor.

În condițiile intoxicației cu CCl_4 are loc scăderea evidentă în măduva osoasă a produsului final al OPL – DAM cu 29% ($p < 0,05$), creșterea concludentă a AGEs cu 34% ($p < 0,05$) și metaboliților NO – cu 36% ($p < 0,05$). Totodată, conținutul de AOPP și S-Nitrozotoli se menține practic la nivelul valorilor lotului martor.

După administrarea PSS în doza de 50 mg/kg pe fondal de patologie modelată are loc normalizarea valorilor DAM și AGE care practic nu se deosebeau de valorile lotului martor, iar metaboliții NO nu numai că nu reușesc să se restabilească, dar au continuat ascensiunea, ajungând să depășească cu 49% valorile martorului.

Datele statistice prezentate în tabelul 2 demonstrează creșterea concludent statistică a activității

Tabelul 1

**Influența PSS asupra indicilor stresului oxidativ (SO) în măduva osoasă
la animalele cu hepatită toxică**

Loturi de studiu	DAM, μM/g prot	AGEs, mg/g prot	AOPP, μM/g prot	Metaboliții NO, μM/g prot	S-Nitrozotoli, nM/g prot
Martor	1,24±0,04 (100%)	3,04±0,31 (100%)	10,1±0,29 (100%)	1,2±0,1 (100%)	243,5±19,1 (100%)
PSS 50 mg/kg	0,81±0,05* (65%)	2,62±0,20 (86%)	7,9±0,15* (78%)	1,12±0,04 (93%)	190,6±14,7* (78%)
CCl ₄	0,88±0,06* (71%)	4,09±0,32* (134%)	10,8±0,01 (106%)	1,63±0,01* (136%)	240,1±22,4 (99%)
CCl ₄ + PSS 50 mg/kg	1,34±0,12 (108%)	3,36±0,41 (111%)	10,2±0,19 (100%)	1,79±0,07*** (149%)	274,1±41,0 (113%)

Notă: * - diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001.

ții enzimelor pro-oxidante - NADH-oxidazei și NADPH-oxidazei cu 59% (p<0,05), a mieloperoxi-dazei (MPO) cu 27% (p<0,05) și modificări statistic sugestive ale activității enzimelor protecției antioxi-dante - scăderea superoxidismutazei (SOD) cu 33% (p<0,05) și majorarea activității catalazei cu 46% (p<0,05) în măduva osoasă în intoxicația cu CCl₄.

La administrarea PSS în doza de 50 mg/kg ani-malelor cu patologia modelată are loc practic nor-malizarea ambelor enzime ale protecției antioxidante studiate.

Remediarea animalelor intacte cu PSS în ace-eași doză atestă tendința spre scădere a enzimelor prooxidante cu 7%-14% și o diminuare veridică a enzimelor antioxidante: SOD-lui cu 45% și catalazei cu 24%.

Discuții. Scăderea indicilor sistemului antioxi-dant (SOD și catalaza) în măduva osoasă la ani-malele sănătoase la administrarea PSS, poate fi privită drept o reacție de adaptare și compensare orientată spre menținerea echilibrului dintre acțiunea oxidantă a radicalilor liberi (RL) și nivelul protector al antioxi-danților.

Producerea SRO și SRN din forma nonfagocitică de NADPH oxidaza joacă un rol primordial în regla-

rea cascadei intracelulare de semnalizare în diferite tipuri de celule nonfagocitice (fibroblaste, celule en-doteliale, celule musculare netede vasculare, miocite cardiace și țesut tiroidian) [2].

Studiul efectuat relevă că, în intoxicația cu CCl₄ se produce o acumulare elocventă de produși fi-nali de glicare avansată (AGEs) și de metaboliți ai NO și o enzimaoactivitate sporită a NADH-oxidazei, NADPH-oxidazei și MPO în măduva osoasă. Acest fapt poate fi atribuit generării în exces sau neutraliză-rii insuficiente a radicalilor liberi ai oxigenului (RLO) și azotului (RLN), care se formează sub acțiunea CCl₄. Totodată, are loc reducerea nivelului produsului final al peroxidării lipidelor DAM. Reducerea veridi-că a nivelului DAM în măduva osoasă, înregistrată în cercetările noastre la tratarea animalelor intacte cu PSS și la modelarea HT este o expresie a mai multor factori: intensitatea biosintezei DAM, viteza procese-lor de metabolizare în țesuturi și capacitatea organis-mului de a elimina acest produs final, cât și nivelul substanțelor cu rol antioxidant.

Datele obținute relevă că efectul CCl₄ asupra celulelor măduvii osoase este diferit de cel exerci-tat asupra ficatului, din cauză că în acestea nu au loc procesele de biotransformare [17]. După cum se știe,

Tabelul 2

Activitatea enzimelor pro- și antioxidante în măduva osoasă la modelarea hepatitei toxice și influența PSS

Loturi de studiu	NADH-oxidaza, μM/g prot	NADPH-oxidaza, μM/g prot	MPO, unit/s.gprot	SOD, u.c/g prot	Catalaza, μkat/g prot
Martor	3,22±0,26 (100%)	2,18±0,18 (100%)	8,68±0, 71 (100%)	89,96±6,5 (100%)	1,01±0,12 (100%)
PSS 50 mg/kg	2,98±0,12 (93%)	2,02±0,08 (93%)	7,47±0,35 (86%)	49,1±1,4* (55%)	0,77±0,07* (76%)
CCl ₄	5,12±0,43* (159%)	3,47±0,29* (159%)	11,02±0,68* (127%)	60,3±3,08* (67%)	1,48±0,08* (146%)
CCl ₄ + PSS 50 mg/kg	3,65±0,29 (113%)	2,47±0,2 (113%)	7,69±0,47 (89%)	93,49±19,7 (104%)	1,12±0,18 (111%)

Notă: * - diferență statistic semnificativă cu lotul-martor, p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001.

rolul central în metabolismul CCl_4 îl are radicalul clorometil - CCl_3 , care se formează la prima etapă de biotransformare în sistemul citocromului P-450, în principal, în ficat și nu apare în alte organe și țesuturi [18].

În cantități fiziologice, RL ajută la menținerea homeostaziei organismului, acționând ca transductori de semnal. RL sunt implicați benefic și în producerea unor hormoni (tiroxina), sunt generați pentru a distruge unele tipuri de bacterii și patogeni încapsulați [2,19]. Într-un șir de studii recente se acreditează ideea că, dialdehida malonică (DAM) este nu numai un produs toxic de peroxidare a lipidelor, nu doar o moleculă toxică, dar și o moleculă importantă implicată în sistemele de semnalizare și de reglare, procese strict controlate *in vivo*. Prin formarea cross-link-urilor (legăturilor încrucișate) dintre lanțurile complementare ale ADN-ului, ea contribuie la stabilizarea helicei ADN-ului și inhibă replicarea. DAM ar putea controla diviziunea celulară prin alternarea ciclurilor de repaus și proliferare în celulele normale [20], iar diminuarea nivelului acestui produs în măduva osoasă ar putea influența asupra proceselor de divizare celulară.

După cum se știe stresul oxidativ provoacă daune oxidative ale proteinelor cu formarea produșilor de oxidare avansată a proteinelor – AOPP și produșilor finali de glicare avansată - AGEs. Acești produși au mai multe efecte biologice - stimulează secreția de citokine, eliberarea moleculelor de adeziune și factorilor de creștere, cresc proliferarea, migrarea și invazia celulelor canceroase, participă la dezvoltarea complicațiilor cronice ale diabetului zaharat și provoacă leziuni ale endoteliului vascular [21,22].

Modificările proteinelor induse de AGEs sunt ireversibile, deoarece nu există enzime în organism, care ar ar putea hidroliza compușii AGEs. De aceea, aceste structuri se acumulează în diverse procese patologice. Principalele efecte biologice ale glicării excesive includ: inhibarea moleculelor cu funcții reglatorii, atașarea proteinelor solubile de matricea extracelulară glicozilată, reticularea proteinelor glicate, sensibilitate scăzută la proteoliză, inactivarea enzimelor, anomalii ale funcției acizilor nucleici, imunogenitate crescută în raport cu formarea complexului imun [23,24].

Astfel, rezultatele obținute demonstrează că, mediul de origine cianobacteriană – PSS nu provoacă deteriorări oxidative ale proteinelor măduvii osoase, ceea ce se manifestă prin diminuarea lor concludentă la animalele sănătoase și menținerea valorilor AOPP în limitele valorilor normale la intoxicarea cu CCl_4 sub influența PSS.

Studiile din ultimii ani au adus tot mai multe do-

vezi referitor la faptul că SO își cumulează efectele sale cu stresul nitrozativ, ce apare în urma formării speciilor reactive de azot, care reprezintă o familie de molecule derivate din oxid nitric (NO) și anionul superoxid, produse prin activitatea enzimelor nitric-oxid sintaza 2 (NOS2) și NADPH-oxidaza, rezultând peroxinitritul – un compus foarte reactiv, care provoacă fragmentarea ADN-lui și oxidarea lipidelor. Expresia NOS2 crește îndeosebi în macrofage, după inducerea acestora de către factorii proinflamatori. Speciile reactive ale azotului sunt considerate adesea drept o subclasă a SRO și includ: oxidul nitric, oxidul nitros, peroxinitritul, anionul nitroxil și acidul peroxinitros.

Datele recente arată că o mare parte a citotoxicității atribuită oxidului nitric se datorează peroxinitritului produs în rezultatul reacției NO cu radicali liberi ai oxigenului (RLO). Peroxinitritul format interacționează cu lipidele, acizii nucleici și proteinele prin mecanisme oxidative directe sau indirecte. Aceste reacții induc răspunsul celular de la modulări subtile până la deteriorări oxidative grave, rezultând apoptoza sau necroza celulară. Radicalii liberi ai oxigenului (RLO) și ai azotului (RLN) sunt produși în mod normal în organism în cantitate mică, având rolul de molecule mesager la nivel celular sau fiind implicați în apărarea celulară (în macrofage și neutrofile) [25,26,27].

Totuși, în cantități fiziologice, RL ajută la menținerea homeostaziei organismului, acționând ca transductori de semnalizare inter-intracelulare. RL sunt implicați în producerea unor hormoni (tiroxina), sunt generați pentru a distruge unele tipuri de bacterii și patogeni încapsulați [27].

Producerea SRO și SRN din forma nonfagocitică de către NADPH-oxidaza joacă un rol primordial în reglarea cascadei intracelulare de semnalizare în diferite tipuri de celule nonfagocitice (fibroblaste, celule endoteliale, celule musculare netede vasculare, miocite cardiace și țesut tiroidian). De asemenea NO este un mesager intracelular în modularea fluxului de sânge, trombozei și activității neuronale. Un rol important îl are și în apărarea nespecifică a gazdei și în distrugerea patogenilor intracelulari și a tumorilor. O altă activitate benefică a RL este inducerea răspunsului mitogenic [27].

Reducerea concludentă a SOD în măduva osoasă la animalele cu hepatopatie toxică indusă de CCl_4 se explică, probabil, prin metabolizarea intensă a SOD-ului cu scopul înlăturării eficiente a anionului superoxid sau biosintezei micșorate, iar creșterea funcționalității catalazei ar putea avea un caracter compensatoriu orientat spre neutralizarea excesului de peroxid de hidrogen.

Bioremediul PSS înlătură acţiunea deprimantă a CCl_4 asupra SOD-ului şi stimulează activitatea acestor enzime care revine către valorile referenţiale ale matorului, totodată remediul manifestă proprietatea de a tempera hiperactivitatea catalazei, care practic se normalizează.

Concluzii

1) Intoxicaţia cu CCl_4 provoacă modificări pronunţate ale indicilor stresului oxidativ şi sistemului antioxidant, care se manifestă prin amplificarea pregnantă a conţinutului de AGEs, metabolizilor NO, activităţii NADH-oxidazei, NADPH-oxidazei, MPO şi catalazei şi reducerea semnificativă a nivelului DAM şi funcţionalităţii SOD în măduva osoasă.

2) Bioremediul cianobacterian PSS reuşeşte să reducă intensitatea efectelor toxice ale CCl_4 asupra celulelor măduvei osoase prin tendinţa de normalizare şi chiar readucerea la valori normale a nivelului DAM şi AGE, precum şi a funcţionalităţii NADH-oxidazei, NADPH-oxidazei, MPO, SOD şi catalazei.

3) Reducerea indicilor reacţiilor de oxidare cu radicali liberi (DAM, AOPP şi S-Nitrozotiolilor) la utilizarea PSS la animalele sănătoase în ţesutul măduvei osoase denotă efectul antioxidant al acestui preparat.

4) Elucidarea mecanismelor homeostazice, care stau la baza acţiunii PSS largesc cunoştinţele teoretice despre proprietăţile biologice ale acestui compus, şi, totodată, oferă noi posibilităţi de a explora obiecte de perspectivă în scopul obţinerii unor noi preparate medicamentoase eficiente.

Bibliografie

1. Reuter S., Gupta S.C., Chaturvedi M.M., Aggarwal B.B. *Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked?* Free Radic. Biol. Med., 2010, vol. 49 (11), p. 1603-1616.
2. Stiuriuc S. *Radicali liberi*, ROmedic, 24.11.2014.
3. Pop V. *Stresul oxidativ şi maladiile prezentului*, Ella'S Center, Bucureşti, 10 mai 2014.
4. Luschchak V. *Oxidative stress and diseases*, 2012, 610 p., p. 497-520.
5. Cabré M., Camps J., Paternáin J.L., et al. *Time-course of changes in hepatic lipid peroxidation and glutathione metabolism in rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis*. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol., 2000; 27(9), p. 694-699.
6. Comporti M., Arezzini B., Signorini C., Vecchio D., Gardi C. *Oxidative stress, isoprostanes and hepatic fibrosis*. In: Histol. Histopathol. 2009 Jul; 24(7):893-900.
7. Olinescu R. *Radicali liberi în fiziopatologia umană*. Bucureşti, 1994, 215 p.
8. Матюшин Б.Н., Логинов А.С., Ткачев В.Д. *Определение супероксиддисмутазной активности в матери-*

але пункционной биопсии печени при ее хроническом поражении. In: Лаб. Дело, 1991, N.7, с. 16-19.

9. Passwater R.A. *The Antioxidants*, 1 edition, United States of America, 1998, 48 p.

10. Rudic V. BioR. *Studii biomedicale si clinice*. Chişinău, Elena-VI SRL. 2007, 376 p.

11. Gudumac V., Nastas I., Rudic V., Melnic D., Sardari V., Şveţ In., Bulimaga V. *Acţiunea osteogenică a bioremediilor din microalge cu conţinut divers de microelemente*. Anale ştiinţifice ale USMF „Nicolae Testemiţanu”. Vol.1. „Probleme medico-biologice, farmaceutice, de sănătate publică şi management”. Chişinău, 2003, p. 134-138.

12. Rudic V. *Ficobiotehnologie – cercetări fundamentale şi realizări practice*. Editura Elena-VI, Chişinău, 2007, 364 p.

13. Wing Pak, Fusako Takayama, Manaka Mine, Kazuo Nakamoto et al. *Anti-oxidative and anti-inflammatory effects of spirulina on rat model of non-alcoholic steatohepatitis*. J. Clin. Biochem. Nutr., 2012; 51(3): 227-234.

14. Lee J.-B., Hou X., Hayashi K., Hayashi T. *Effect of partial desulfation and oversulfation of sodium spirulan on the potency of anti-herpetic activities*. In: Carbohydrate Polymers, 2007, vol. 69, p. 651-65.

15. Gudumac V., Tagadiuc O., Rîvneac V., Sardari V. et al. *Investigaţii biochimice. Elaborare metodică. Micrometode*. Vol.II. Ch.: Elena V. I. SRL, 2010, 104 p.

16. Gudumac V., Rîvneac V., Tagadiuc O., Sardari V., et al. *Metode de cercetare a metabolismului hepatic. Elaborare metodică*. Sub red. Valentin Gudumac. Univ. de Stat de Medicină şi Farmacie „Nicolae Testemiţanu”. Ch.: S.n., 2012. Tipogr. „Tehnica-Info”. 162 p.

17. Manibusan M. K., Odin M., Eastmond D. A. *Posulated carbon tetrachloride mode of action: a review*. J. Environ. Sci. Health C Environ. Carcinog. Ecotoxicol. Rev., 2007; 25(3):185-209.

18. Weber L. W., Boll M., Stamfl A. *Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model*, Crit. Rev. Toxicol. 2003, 33(2):105-136.

19. Niţu R., Corol Delia-Irina, Toma N. *Radicali liberi în sistemele biologice; efectele lor citogenetice*, Institutul de Genetică, Universitatea, Bucureşti, Institutul Naţional de C&D pentru Fizică şi Inginerie Nucleară “Horia Hulubei”, Bucureşti, 2015.

20. Schapira A.H. *Mitochondrial diseases*. Lancet 2012; 379: 1825-34.

21. Tache S. *Speciile reactive ale oxigenului şi azotului: formare şi consecinţe* (cap. 1). *Stresul oxidativ* (cap. 2). În: *Stresul oxidativ în bolile interne*, Casa Cărţii de Ştiinţă, Cluj-Napoca, 2000, p. 15-136.

22. Reuter S., Gupta S.C., Chaturvedi M.M., Aggarwal B.B. *Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked?* Free Radic. Biol. Med., 2010; 49 (11), p. 1603-1616.

23. Kalousova M., Krha J., Zima T. *Advanced Glycation End-Products and Advanced Oxidation Protein Products in Patients with Diabetes Mellitus. Physiol. Res.* 2002; 51: 597-604.
24. Hong Yan Li et al. *Advanced oxidation protein product accelerate renal fibrosis in a remnant kidney model. J Am Soc Nephrol.*, 2007; 18, p.528-538.
25. Ristow M, Zarse K. *How increased oxidative stress promotes longevity and metabolic health: the concept of mitochondrial hormesis (mitohormesis).* Exp Gerontol. 2010; 45: 410–418.
26. Казимирко В.К., Иваницкая Л.Н., Кутовий В.В., et al. Перекисное окисление липидов: противоречия проблемы. *Україн. ревматол. журнал.* 2014, №57 (3).
27. Sergio Di Meo, Tanea T. Reed, Paola Venditti, and Victor Manuel Victor. *Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions.* Oxid Med Cell Longev. 2016: 1245-49.